

Humán patogén anaerob baktériumok in vitro érzékenysége tigecyclinre és a komparátor antibiotikumokra Magyarországon

Prospektív, többcentrumos vizsgálat

NAGY Erzsébet, URBÁN Edit, JAKAB Gabriella, SZIKRA Lenke,
MISZTI Cecília, SZABÓ Judit

IN VITRO SENSITIVITY OF HUMAN
ANAEROBIC PATHOGENIC BACTERIA FOR
TIGECYCLINE AND COMPARATIVE
ANTIBIOTICS IN HUNGARY

BEVEZETÉS – A tigecyclin a glicilciklin család első tagja, a minocyclin félszintetikus származéka. Az alapvegyület módosítása megvédi a tigecyclint azoktól a rezisztenciamechanizmusoktól, amelyek hatástalanítják a tetraciklineket, így várhatóan megőrzi hatékonyságát a tetraciklin-rezisztens törzsekkel szemben is. A 2007–2008-ban három magyarországi laboratórium részvételével történt többcentrumos felmérés célja az volt, hogy *in vitro* vizsgálja a szer anaerobok ellen várható hatékonyságát.

ANYAG ÉS MÓDSZER – A laboratóriumok 540 Gram-pozitív és -negatív anaerob törzset gyűjtöttek olyan infekciókból, amelyek kezelésére már törzskönyvezték (bőr- és lágyrész-infekciók, intraabdominalis infekciók), illetve a közeljövőben törzskönyvezni fogják a tigecyclint (alsó légúti infekciók). Az antibiotikum-érzékenységi vizsgálatokat Etesttel végezték, és hat antibiotikum hatékonyságát értékelték a MIC-érték meghatározásával.

EREDMÉNYEK – Az 540 törzs 33 különböző anaerob speciesbe tartozott. A Gram-pozitív anaerob cocci (104) 100%-ban érzékenyek voltak a tigecyclinre, igen jó érzékenységet mutattak a *Clostridium* törzsek is, a törzsek 98%-a érzékeny volt. Az 56 *Prevotella* törzs közül kettő izolátum volt tigecyclinrezisztens, a 280 *Bacteroides* esetében a MIC₅₀ 0,5 µg/ml, a MIC₉₀ 1 µg/ml volt és a törzsek mindössze 1,8%-a mutatott alacsony fokú rezisztenciát.

KÖVETKEZTETÉSEK – A hazai többcentrumos felmérés eredménye szerint a tigecyclin hatékony a bőr- és lágyrész-infekciókból, az intraabdominalis infekciókból és az alsó légúti infekciókból izolált releváns anaerob baktériumok döntő többségével szemben (97,4%-os érzékenység), hasonlóan a nemzetközi vizsgálatok eredményéhez. Így empirikus használata ajánlható mindazon fertőzésekben, ahol egyedül vagy vegyes fertőzésben számítani lehet anaerob baktériumok jelenlétére.

INTRODUCTION – Tigecycline, the first member of the glycylcycline family of antibiotics, is a semisynthetic derivative of minocycline. The modified tetracycline nucleus is protected against the resistance mechanisms that inactivate tetracyclines, thus tigecycline is expected to be effective against tetracycline-resistant strains. The aim of this multicenter survey, performed in 2007 and 2008 by three Hungarian laboratories, was to examine the efficiency of this drug against anti-anaerobic bacteria *in vitro*.

MATERIALS AND METHODS – The participating laboratories isolated 540 strains of Gram-positive and Gram-negative anaerobic bacteria from various infectious sites. These sites represent the classes of infections for which tigecycline was recently approved as a treatment option (skin and soft tissue and intra-abdominal infections), or for which it will be licensed in the near future (lower respiratory tract infections). Evaluation of antibiotic susceptibility was performed by Etest, and the efficiencies of six antibiotics were determined using MIC values.

RESULTS – The 540 strains belonged to 33 different species. Of the 104 strains of Gram-positive anaerobic cocci, 100% proved to be susceptible to tigecycline. Similarly, 98% of the examined *Clostridium* strains showed susceptibility to this antibiotic. Two of the 56 *Prevotella* strains were resistant against tigecycline. MIC₅₀ and MIC₉₀ values in the 280 *Bacteroides* strains were 0.5 µg/ml and 1 µg/ml, respectively, whereas only 1.8% of the tested strains showed low resistance.

CONCLUSION – Similarly to the findings of international surveys, our results show that tigecycline is effective against the great majority (97.4% susceptibility) of relevant anaerobic bacteria that are isolated from skin and soft tissue, intra-abdominal and lower respiratory tract infections. Thus, empiric use of tigecycline is recommended in any infections where anaerobic bacteria alone or a mixed flora of aerobic and anaerobic bacteria are likely to be present.

**tigecyclin, anaerob baktériumok,
antibiotikum-rezisztencia, in vitro hatékonyság**

**tigecycline, anaerobic bacteria,
antibiotic resistance, in vitro efficiency**

dr. NAGY Erzsébet (levelező szerző/correspondent), dr. URBÁN Edit: Szegedi Tudományegyetem, Szent-Györgyi Albert Klinikai Központ, Klinikai Mikrobiológiai Diagnosztikai Intézet, Szeged/Department of Clinical Microbiology, Faculty of Medicine, University of Szeged, Szeged; H-6725 Szeged, Semmelweis u. 6. E-mail: nagy@mlab.szote.u-szeged.hu
dr. JAKAB Gabriella, dr. SZIKRA Lenke: ÁNTSZ Laboratóriumi Kft. Fejér Megyei Mikrobiológiai Laboratórium, Székesfehérvár/Laboratory of Clinical Microbiology, National Health Service Laboratory LTD; Székesfehérvár
MISZTI Cecília, dr. SZABÓ Judit: Debreceni Egyetem, Orvos- és Egészségtudományi Centrum, Orvosi Mikrobiológiai Intézet/Department of Medical Microbiology, Medical and Health Science Centre, University of Debrecen; Debrecen

Érkezett: 2009. szeptember 4. Elfogadva: 2009. szeptember 22.

Az alapvegyület módosítása megvédi a tigecyclint a rezisztencia-mechanizmusoktól.

A tigecyclint, a tetraciklincsalád szintetikus analogjának tekinthető glicilciklincsoport első tagját a Food and Drug Administration (FDA, Amerikai Egyesült Államok) 2005 júniusában engedélyezte intraabdominalis, bőr- és lágyrész-infekciókban és a közeljövőben várható törzskönyvezése alsó légúti infekciókban is. 2006 óta Európában is bevezették klinikai használatát. A minocyclin félszintetikus változata, a tigecyclin több mint 30 évvel a minocyclin piacra kerülése után a tetraciklincsalád első új tagja. Különlegesen tekinthető a hatásspektruma, mert a methicil-

linrezisztens *Staphylococcus aureus* (MRSA) és *Enterococcus*-ellenes hatékonysága mellett igen jól hat a Gram-negatív baktériumokra, az *Enterobacteriaceae* családba tartozó törzsré és a multirezisztens *Acinetobacter baumannii* törzsek leg többjére is. Míg a mikrobiológusok és klinikusok a tetraciklinrezisztencia-gének ismert széles körű elterjedtsége miatt ma már a tetraciklineket nem tartják első választandó szernek számos infekció esetén, a

tigecyclin bevezetésével az imipenemmel egyenrangú hatékonyságú szer került a klinikusok kezébe az intraabdominalis infekciók kezelésében (1, 2). A tigecyclin hatékonysága vetekszik a vancomycin és aztreonam kombináció hatékonyságával a bőr- és lágyrész-infekciókban (3, 4). Az *in vitro* vizsgálatok igazolták a tigecyclin hatékonyságát a leggyakoribb anaerob baktériumokkal (*Bacteroides fragilis* csoport tagjai, *Clostridium perfringens*, *C. difficile*) szemben, illetve nem szokványos (ritkábban izolált) anaerob klinikai izolátumokkal szemben is (5, 6).

A glicilciklinek hatásmechanizmusa hasonló a tetraciklinekéhez, gátolják a bakteriális fehérjeszintézist azáltal, hogy a riboszóma 30S alegységéhez kötődnek. A tigecyclin annak köszönheti jobb hatékonyságát, hogy mintegy ötször erősebben kötődik a riboszómához, mint a tetraciklin vagy a minocyclin. A tigecyclin a minocyclin 9-t-butilglicil-amid származéka, a 9-es pozícióba helyezett oldallánc azt teszi lehetővé, hogy a tetraciklinekre jellemző rezisztenciamechanizmusok (aktív effluxpumpa a szer eltávolítására vagy a riboszóma védelem a szer targetkötődésével szemben) ne akadályozzák hatékonyságát, így jól hat a tetracik-

linrezisztens baktériumok többségére is. A tetraciklinnel és minocyclinnel szembeni szerzett rezisztenciáért a Tet(A-E) effluxpumpák működéséhez szükséges fehérjéket kódoló gének felelősek az *Enterobacteriaceae* és *Acinetobacter* speciesben, azonban ez nem befolyásolja a tigecyclin hatékonyságát ezekben a törzsekben (7–9). A Tet(K) effluxpumpa, amely a staphylococcusok esetében felelős a szerzett tetraciklinrezisztenciáért, ugyancsak nem érinti a tigecyclinérzékenységet, de nem jelent rezisztenciát a minocyclinnel és a doxycyclinnel szemben sem (9). Másrészt a tigecyclin a Tet(M) protein által védett riboszómához is képes kapcsolódni – más irányból történik szerkezetéből adódó jelentősen erősebb kötődése a riboszómához, mint a tetracikliné –, így kikerüli ezt a rezisztenciamechanizmust is (10). Csökkentik azonban a tigecyclin hatását a proteusok és a *Pseudomonas aeruginosa* törzsek esetében gyakori kromoszómáisan kódolt multidrug effluxpumpák és a *Bacteroides* speciesek egy részében megtalálható tet(X) gén által kódolt tetraciklinbontó monooxidáz (11).

Az anaerob baktériumok által okozott fertőzések antimikrobás terápiás megközelítése jelentős változásokon ment át az elmúlt évtizedekben. Egyrészt néhány anaerob faj (mindenekelőtt a *Bacteroides fragilis* csoportba tartozó speciesek és az egyes *Clostridium*-fajok) egyre növekvő arányú rezisztenciát mutatott a „klasszikus anaerobellenes” szerekekkel, például az erythromycinnel, clindamycinnel, tetraciklinekkel szemben. Másrészt széles körben elérhetővé váltak az újabban bevezetett antianaerob hatású antibiotikumok, mint a carbapenemek, valamint a béta-laktám és béta-laktamáz-gátló kombinációk. Az anaerob mikroorganizmusok antibiotikumokkal szembeni érzékenységét *in vitro* vizsgáló módszerek fokozódó pontossága lehetővé tette az anaerob infekciók hatékonyabb kezelését. A carbenicillin, a ticarcillin és az újabb ureidopenicillinek (mezlocillin, azlocillin és piperacillin) hatásosak a penicillinérzékeny anaerob törzsek, valamint nagy adagokban a *Bacteroides fragilis* csoportba tartozó speciesek egyes törzsei ellen (12). A rezisztens törzsek megjelenése, illetve az újabban megismert több antibiotikumra eleve rezisztens, „genetikusan determinált” rezisztenciával rendelkező speciesek (például *Bilophila wadsworthia*, *Sutterella wadsworthensis*) egyre gyakoribb izolálása humán elváltozásokból mindenesetre

korlátozza értéküket az anaerob fertőzések leküzdésében (12). A béta-laktám és béta-laktamáz-gátló szerek kombinációi fontos előrelépést jelentettek az anaerob fertőzések terápiájában. Ezek a gyógyszerek általában hatásosak voltak a legtöbb patogén anaerob baktérium, közöttük a *Bacteroides fragilis* ellen is, és ugyancsak hatásosak lehetnek a gastrointestinalis és urogenitalis traktusokból kiinduló kevert fertőzésekben részt vevő fakultatív és aerob kórokozók többsége ellen. A piperacillin-tazobactam egy ureidopenicillin és egy béta-laktamáz-gátló legújabb kombinációja, illetve az ampicillin-sulbactam, amoxicillin-klavulánsav és a ticarcillin-klavulánsav már jól alkalmazhatók anaerob és kevert fertőzések kezelésére, azonban velük szemben is megjelent rezisztencia, főleg a *Bacteroides* genus non-fragilis speciesei között (12, 13). Az első és a harmadik/negyedik generációs cephalosporinok anaerob kórokozókkal szembeni aktivitása gyenge, a második generációs cephalosporinok közül a cefoxitin, a cefotetan és a ceftizoxim *in vitro* hatékonyak voltak az anaerob baktériumok ellen, azonban kevésbé terjedtek el a klinikai gyakorlatban. Magyarországon, elsősorban a *Bacteroides* törzsek között, jelentős mértékben nőtt a cefoxitinrezisztens törzsek száma (6, 13). Noha a clindamycin továbbra is fontos gyógyszere marad az anaerob fertőzéseknek, e szerepét azonban újra kell értékelni az egyes országokban tapasztalt, feltehetően a mértéktelen használatra visszavezethető nagyfokú rezisztencia elterjedése kapcsán (13–15). Az anaerob fertőzések carbapenemterápiájával kapcsolatos klinikai tapasztalatok kedvezőek, és általában a carbapenemek széles hatásspektruma és csekély toxicitása vonzó alternatívát kínál anaerob és vegyes aerob-anaerob fertőzések kezelésére. Ma már azonban egyre több vizsgálat eredménye bizonyítja, hogy a *Bacteroides fragilis* törzsek több különböző rezisztenciamechanizmus alapján (elsősorban a metallo-béta-laktamáz-termelést kódoló *cfiA* gén terjedése következtében) rezisztenssé válhatnak a carbapenemekkel szemben (16). A metronidazol is kiterjedten használatos antibiotikum egyes Gram-negatív anaerob fertőzések kezelésében, *Clostridium difficile* okozta hasmenésben, azonban nem hat a fakultatív anaerob baktériumokra. Így kevert fertőzések – mint például béleredetű intraabdominalis fertőzések – esetében javasolt kombinációban történő alkalmazása. A metronidazolrezisztencia a *nim* gének terjedése révén nemcsak a *Bacteroides fragilis*, hanem más *Bacteroides* speciesek esetében is vezethet terápiás kudarchoz (17, 18). A negyedik generációs fluorokinolonok (moxifloxacin, trovafloxacin) anaerobellenes hatékonyságához nagy reményeket fűztek a bevezetésükkor, azonban úgy tűnik, hogy a fluorokinolonok általános használata igen hatékonyan szelektálja, elsősorban a normális bélflórában, a fluorokinolonrezisztens *Bacteroides* törzseket, amelyek másodlagosan endogén infekciók kórokozói lehetnek (19).

Vizsgálataink célja az volt, hogy meglehetősen nagyszámú és lehetőség szerint különböző speciesekbe tartozó, hazai, klinikailag releváns anaerob izolátumok-

ban vizsgáljuk – a klinikai mikrobiológiai laboratóriumokban gyakran alkalmazott Etest-módszerrel – a tigecyclin hatékonyságát egyéb komparátor antibiotikumokkal összehasonlítva.

Anyagok és módszerek

Részt vevő laboratóriumok

A vizsgálatot két különböző időpontban, 2007-ben, majd 2008-ban, három-három hónapos időszakban frissen izolált anaerob baktériumtörzsekkel végeztük. Egy beteg ugyanazon speciesbe tartozó megegyező antibiotikum-rezisztenciájú izolátumai nem kerültek be többször a vizsgálatba. A törzsek és adatok gyűjtése három centrumban – Debrecen, Szeged és Székesfehérvár – történtek. A laboratóriumok adatlapokon rögzítették a vizsgált törzsekre vonatkozó demográfiai, klinikai adatokat. A transzportközegben beküldött összes törzs esetében a Szegedi Tudományegyetem, Klinikai Mikrobiológiai Diagnosztikai Intézet anaerob laboratóriuma végezte el az érzékenységi vizsgálatokat.

A tigecyclin hatékony az izolált releváns anaerob baktériumok döntő többségével szemben.

Vizsgált baktériumtörzsek

A két különböző időszakban a laboratóriumok 90-90 törzset, laboratóriumonként összesen 180 izolátumot gyűjtöttek. Az 540 anaerob izolátum megoszlása a következő volt: 100 *Clostridium* species, 104 Gram-pozitív anaerob coccus, 280 *Bacteroides fragilis* csoportba tartozó törzs és 56 *Prevotella* species. A vizsgálatba bevont törzsek species szerinti megoszlását az 1. táblázat mutatja.

Vizsgált antibiotikumok

Minden baktérium öt azonos antibiotikum iránti érzékenységét határoztuk meg: tigecyclin, clindamycin, metronidazol, piperacillin-tazobactam, meropenem. Ezen túlmenően a Gram-pozitív baktériumoknál vizsgáltuk még a penicillin G, és a Gram-negatív baktériumoknál a cefoxitin iránti érzékenységet.

Az antibiotikum-érzékenységi vizsgálatok kivitelezése

Meghatároztuk a beküldő laboratóriumok által species-, illetve néhány esetben genusszintig azonosított baktériumtörzsek valamennyi antibiotikum iránti érzékenységét Etesttel (AB Biodisk, Solna, Svédország) a gyártó előírásának megfelelően. A törzsek 24 órás anaerob körülmények között történő inkubálása után

1. TÁBLÁZAT

A vizsgált anaerob törzsek species szerinti megoszlása (N=540)

Gram-pozitív			
<i>Clostridium</i> spp. (N=100)			
<i>Clostridium perfringens</i>	45	<i>Clostridium paraputrificum</i>	2
<i>Clostridium difficile</i>	29	<i>Clostridium bifermentans</i>	1
<i>Clostridium sporogenes</i>	10	<i>Clostridium ramosum</i>	1
<i>Clostridium butyricum</i>	3	<i>Clostridium clostridioforme</i>	1
<i>Clostridium septicum</i>	3	<i>Clostridium</i> spp.	5
Gram-pozitív anaerob coccusok (N=104)			
<i>Micromonas micros</i>	20	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	6
<i>Anaerococcus prevotii</i>	19	<i>Peptoniphylus assacharolyticus</i>	2
<i>Finnegoldia magna</i>	18	<i>Peptostreptococcus</i> spp.	39
Gram-negatív			
<i>B. fragilis</i> csoport (N=280)			
<i>Bacteroides fragilis</i>	214	<i>Parabacteroides (B.) distasonis</i>	5
<i>Bacteroides capillosus</i>	13	<i>Bacteroides vulgatus</i>	5
<i>Bacteroides caccae</i>	11	<i>Bacteroides stercoris</i>	3
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>	11	<i>Parabacteroides (B.) merdae</i>	2
<i>Bacteroides uniformis</i>	8	<i>Bacteroides eggerthii</i>	1
<i>Bacteroides ovatus</i>	7		
<i>Prevotella</i> spp. (N=56)			
<i>Prevotella loescheii</i>	15	<i>Prevotella denticola</i>	3
<i>Prevotella bivia</i>	10	<i>Prevotella melaninogenica</i>	3
<i>Prevotella oralis</i>	10	<i>Prevotella corporis</i>	2
<i>Prevotella disiens</i>	8	<i>Prevotella</i> spp.	2
<i>Prevotella buccae</i>	3		

1,0 McFarland sűrűségű szuszpenziót készítettünk preredukált BHI (Brain-Heart Infusion, pH 7,2) levesten (Anaerobe System, Morgan Hill, CA, Amerikai Egyesült Államok), majd a szuszpenzióból 200 µl-t 150 mm átmérőjű, K₁-vitaminnal és heminnel készített Brucella Blood agarlemezre (Anaerobe System, Morgan Hill, CA, Amerikai Egyesült Államok) szélesztettük. Egy táptalaj felszínére helyeztük radiálisan mind a hat, különböző antibiotikumot tartalmazó Etest-csíkot. A táptalajokat 48 órán keresztül anaerob körülmények között (90% N₂, 5% H₂ és 5% CO) anaerob kamrában (Bactron Sheldon Man, Cornelius, Oregon, Amerikai Egyesült Államok) inkubáltuk, majd az inkubációs idő elteltével leolvastuk a MIC-értékeket. Minden alkalommal a *Bacteroides fragilis* ATCC 25285 és a *Bacteroides thetaiotaomicron* ATCC 29741 törzset használtuk kontrollként. Az alkalmazott antibiotikumok érzékenységeinek interpretálására az EUCAST, illetve a CLSI által megadott határértékek („break point”) voltak az irányadók (2. táblázat).

Eredmények

A vizsgálat céljának megfelelően olyan kórképekből származó anaerob törzsek vizsgálatára törekedtünk, amelyek beleesnek a tigecyclin használatának indikációs területébe. A vizsgálati anyagokat és az izolált törzsek számát a 3. táblázat mutatja. Csak klinikailag rele-

váns mintából izolált anaerob törzset vontunk be a rezisztenciavizsgálatba. Törekedtünk arra, hogy minél több különböző speciesbe tartozó Gram-negatív és Gram-pozitív anaerob törzs esetében történjen meg a különböző antianaerob hatású antibiotikumok MIC-értékének meghatározása. Az összesen 540 izolátum 33 különböző anaerob speciesbe tartozott. Mindössze öt *Clostridium* és két *Prevotella* törzs esetében nem sikerült speciesszintű meghatározásra jutni a használt konvencionális módszerekkel azok ismert hiányosságai miatt (1. táblázat). Ugyanezen okok miatt nem törekedtünk a peptostreptococcusok (39 izolátum) speciesszintű meghatározására sem. Az előforduló speciesek gyakorisági sorrendje tükrözi a rutin laboratóriumok mindennapi izolálási gyakorlatát. A legtöbb izolátum a *Bacteroides fragilis* speciesbe (214) és a *Clostridium perfringens* (45), illetve *Clostridium difficile* (29) speciesbe tartozott. A közelebbről nem identifikált, *Peptostreptococcus* genusba tartozó törzsek nagy számát (39) a kiemelten kezelt kórképek (intra-abdominalis infekció, bőr- és lágyrész-infekció) indokolja.

A tigecyclin és a komparátorként vizsgált antibiotikumok Gram-pozitív anaerob baktériumokkal szembeni hatékonyságát a 4. táblázat mutatja. A tigecyclin igen jó hatékonyságot mutatott majdnem minden általunk vizsgált anaerob Gram-pozitív törzssel szemben. A Gram-pozitív anaerob coccusok 100%-ban érzékenyek voltak a tigecyclinre, mind a MIC₅₀-, mind a

MIC₉₀-érték alacsony volt (0,064, illetve 0,125 µg/ml). A Gram-pozitív anaerob cocci az egyéb, vizsgált antibiotikumokkal szemben is érzékenynek bizonyultak, ez alól csak a clindamycin a kivétel, amellyel szemben a rezisztens törzsek aránya 21%, és a MIC₉₀-érték magas (256 µg/ml) volt. A vizsgált Gram-pozitív anaerob cocci között nem találtunk multirezisztens izolátumot, a MIC₉₀-értékek a clindamycin kivételével minden vizsgált antibiotikum esetében jelentősen az érzékenységi határérték alatt maradtak (0,125-0,5 µg/ml).

A *Clostridium* törzsek között két tigecyclinrezisztens *Clostridium perfringens*-izolátumot találtunk. Mindkét törzs esetében a rezisztencia-határértéknek felelt meg a mért MIC-érték (16 µg/ml), az egyik törzs clindamycinre és metronidazolra is rezisztensnek bizonyult, míg a másik törzs a tigecyclin kivételével minden más vizsgált antibiotikumra érzékenynek mutatkozott. A penicillin G-re a törzsek 64%-a volt csak érzékeny, 16%-a mérsékelten érzékeny kategóriába, míg 20%-a a rezisztens kategóriába tartozott. Az összes penicillin G-rezisztens *Clostridium* törzs a *Clostridium difficile* speciesbe tartozott. A clindamycinre érzékeny törzsek aránya 73% volt, míg a piperacillin-tazobactam kombináció a törzsek 89%-ában *in vitro* hatásosnak bizonyult. Meglehetősen érdekes a helyzet azonban, ha a metronidazolrezisztenciát vizsgáljuk: minden vizsgált Gram-pozitív anaerob izolátum, így a clostridiumok is, 100%-ban érzékenyek voltak a metronidazolra, ha a Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) határértéke (≤8 µg/ml) alapján döntünk. Ha azonban az European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) rezisztencia-határértékeit vesszük az értékelés alapjául (>4 µg/ml), a törzsek 14%-a rezisztensnek bizonyult. Mindössze négy *Clostridium difficile*-izolátum meropenem-MIC-értéke nem esett az érzékeny kategóriába (egy mérsékelten érzékeny volt, MIC: 8 µg/ml és három rezisztens volt, MIC: 16 µg/ml).

A Gram-negatív anaerob pálcák közül a humán kórfolyamatokból leggyakrabban izolált baktériumok a *Bacteroides fragilis* csoport tagjai, ezen belül is a *Bacteroides fragilis* speciesbe tartoznak (5. táblázat). A 280 *Bacteroides*-izolátum közül 214 törzs volt *Bacteroides fragilis*. Az összes vizsgált *Bacteroides* törzs közül csak három *Bacteroides fragilis*, egy *Bacteroides thetaiotaomicron* és egy *Bacteroides capillosus* esetében mértünk ≥16 µg/ml MIC-értéket tigecyclinnel szem-

2. TÁBLÁZAT

A vizsgált antibiotikumok érzékenységi/rezisztencia határértékei anaerob baktériumok esetében

Antibiotikum	EUCAST (20)		CLSI (21)	
	µg/ml			
	Érzékeny	Rezisztens	Érzékeny	Rezisztens
Penicillin G	≤0,25	>0,5	≤0,5	≥2
Piperacillin/tazobactam	≤8	>16	≤32	≥128
Cefoxitin	–	–	≤16	≥64
Meropenem	≤2	>8	≤4	≥16
Clindamycin	≤4	>4	≤2	≥8
Metronidazol	≤4	>4	≤8	≥32
Tigecyclin	–	–	≤4	≥16

3. TÁBLÁZAT

Az izolált anaerob törzsek megoszlása a vizsgálati minták szerint

Vizsgálati anyag	Izolált anaerob törzsek száma
Hasúri infekcióból származó tályog bennék/geny	106
Műtét közben vett intraabdominalis minta	78
Peritonealis aspirátum	42
Egyéb aspirátum/exudátum	40
Epe	18
Mély szövetminta, biopszia	29
Diabeteses lábinfekcióból nyert mély szöveti minta	21
Végbéltályog-végbéltumor műtéti minta	40
Hemokultúra	37
Bőrgyógyászati sebváladék	62
Nőgyógyászati műtéti minta	23
Mély légúti minta és pleuralis punkció	16
Egyéb	28
Összesen	540

ben (1,8%-os rezisztencia). Nyolc törzs (2,8%) a mérsékelten érzékeny (MIC: 8 µg/ml) kategóriába esett. A legalacsonyabb MIC₉₀-értékeket (1 µg/ml) a tigecyclin, a metronidazol és a meropenem esetében találtuk. A törzsek 12,5%-a bizonyult rezisztensnek a piperacillin-tazobactammal szemben, 21%-a volt clindamycinrezisztens és 35,4%-a cefoxitinrezisztens. Bár az irodalomból ismert, hogy az egyes *Bacteroides* speciesek rezisztenciaviszonyai között jelentős eltérések lehetnek (például az indolpozitív törzsek általában rezisztensebbek), nem tudtunk összehasonlító értékelést végezni, mivel a legnagyobb számban *Bacteroides fragilis* törzsek (214) kerültek a vizsgálatba, az egyéb *Bacteroides* speciesbe tartozó izolátumok száma jóval kevesebb volt.

A *Prevotella* genusba tartozó törzsek esetében a tigecyclin és a meropenem MIC₉₀-értéke volt a legalacsonyabb (0,5 µg/ml). A *Prevotella* genusba tartozó 56 vizsgált törzs között csak két, feketén pigmentált *Prevotella loescheii*-izolátum volt tigecyclinrezisztens (MIC-értékek: 16 és ≥256 µg/ml). Az az izolátum, amelynek tigecyclin-MIC-értéke ≥256 µg/ml volt, magas szinten rezisztens volt a vizsgált antibiotikumok

4. TÁBLÁZAT

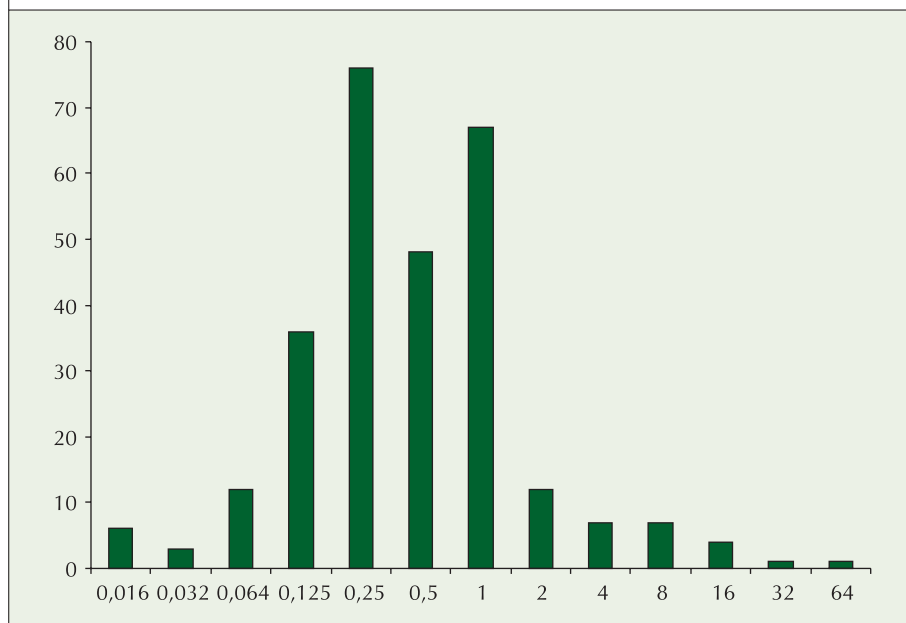
A vizsgált Gram-pozitív anaerob törzsek antibiotikum-érzékenységi adatai (MIC_{50} , MIC_{90} és MIC-tartomány $\mu\text{g/ml}$ -ben megadva)

		TGC	CM	MZ	PTC	MP	PGL*
Gram-pozitív anaerob coccusok N=104	É%	100	79	100	100	100	99
	M%	0	0	0	0	0	0
	R%	0	21	0	0	0	1
	MIC_{50}	0,064	0,25	0,125	0,032	0,032	0,064
	MIC_{90}	0,125	256	0,5	0,25	0,125	0,125
	Tartomány	0,016–0,5	0,016–≥256	0,016–2	0,016–1	0,002–0,5	0,002–1
<i>Clostridium</i> spp. N=100	É %	98	73	86	89	97	64
	M %	0	5	0	7	1	16
	R %	2	23	14	4	3	20
	MIC_{50}	0,125	4	0,5	0,25	0,25	0,125
	MIC_{90}	1	64	8	16	1	1
	Tartomány	0,016–16	0,064–≥256	0,032–16	0,016–≥256	0,002–32	0,008–≥32

TGC: tigecyclin; CM: clindamycin; MZ: metronidazol; PTC: piperacillin/tazobactam; MP: meropenem; PGL: penicillin G; É: érzékeny; M: mérsékelten érzékeny; R: rezisztens

1. ÁBRA

A tigecyclin-MIC-értékek megoszlása a 280, *Bacteroides fragilis*-csoportba tartozó törzs esetében (vízszintes tengely: tigecyclin-MIC, $\mu\text{g/ml}$, függőleges tengely: törzsek száma)



közül cefoxitinre, clindamycinre és piperacillin-tazobactamra is (mindhárom antibiotikum MIC-értéke: $\geq 256 \mu\text{g/ml}$) (6. táblázat). Az összes *Prevotella*-izolátum érzékeny volt meropenemre, a metronidazol (97,6% érzékeny) és a tigecyclin (96,4% érzékeny) hasonló hatékonyságúnak bizonyult. Az izolátumok mindössze 65,8%-a volt érzékeny clindamycinre, 72,1%-a cefoxitinre és 90,6%-a piperacillin-tazobactamra.

A vizsgált 540 különböző klinikai mintából származó anaerob izolátumból összesen csak kilenc volt (1,6%) rezisztens tigecyclinre (a MIC-értékek 16 és $>256 \mu\text{g/ml}$ között változtak) (6. táblázat). A két *Clostridium perfringens*- és két *Prevotella loescheii*-izolátum mellett öt *Bacteroides* törzs bizonyult rezisztensnek. Egyedül a *Bacteroides thetaiotaomicron* esetében mértünk jelentősen magasabb MIC-értéket ($64 \mu\text{g/ml}$), mint a rezisztencia-határérték. A kilenc anaerob törzsből öt volt multirezisztens, tehát a tigecyclinen kívül a vizsgált hat antibiotikum közül még legalább kettőre rezisztens volt (6. táblázat). A két különböző időpontban, egy év különbséggel végzett rezisztenciafelmérés adatai között mindössze annyiban találtunk különbséget, hogy míg a 2007-ben végzett vizsgálat során egyetlen *Bacteroides fragilis* törzs esetében mértünk rezisztens kategóriába eső MIC-értéket a tigecyclin vizsgálatakor, addig a többi

nyolc rezisztens törzset a második felmérés során találtuk.

Megbeszélés

A glicilciklinek a tetraciklin családon belül új antibiotikum-csoportot képviselnek, egyelőre még a csoport tagjai közül csak a tigecyclin került be a nemzetközi

5. TÁBLÁZAT

A vizsgált Gram-negatív anaerob törzsek antibiotikum-érzékenységi adatai (MIC_{90} , MIC_{50} és MIC-tartomány $\mu\text{g/ml}$ -ben megadva)

		TGC	CM	MZ	PTC	MP	CEF*
<i>B. fragilis</i> csoport N=280	É%	95,4	79	99	84,6	98,6	47,5
	M%	2,8	0	0	2,9	0	17,1
	R%	1,8	21	1	12,5	1,4	35,4
	MIC_{50}	0,5	4	0,5	1	0,125	32
	MIC_{90}	1	256	1	32	1	256
<i>Prevotella</i> spp. N=56	Tartomány	0,016–64	0,016–≥256	0,016–16	0,016–≥256	0,016–32	2–≥256
	É%	96,4	65,8	97,9	90,6	100	72,1
	M%	0	0	0	2,1	0	1
	R%	3,6	34,2	2,1	7,3	0	26,9
	MIC_{50}	0,25	2	0,5	0,25	0,125	8
	MIC_{90}	0,5	256	2	8	0,5	256
	Tartomány	0,016–≥256	0,016–≥256	0,016–16	0,016–≥256	0,002–2	0,125–≥256

TGC: tigecyclin; CM: clindamycin; MZ: metronidazol; PTC: piperacillin/tazobactam; MP: meropenem; CEF: cefoxitin; É: érzékeny; M: mérsékelten érzékeny; R: rezisztens

6. TÁBLÁZAT

A vizsgálat során 540 különböző speciesbe tartozó anaerob izolátum közül mindössze a törzsek 1,6%-a (kilenc törzs) volt tigecyclinrezisztens. Ezek egyéb antianaerob szerekkel szembeni rezisztenciája

Törzsek/ $MIC \mu\text{g/ml}$	Antibiotikumok*						
	TGC	FX	CM	MZ	PTC	MP	PGL
	Rezisztencia-határérték: $\mu\text{g/ml}$						
	16	64	8	8	32	8	1
<i>Clostridium perfringens</i>	16	–	>256	16	0,25	0,032	0,125
<i>Clostridium perfringens</i>	16	–	0,125	2	0,25	0,032	0,125
<i>Prevotella loescheii</i>	>256	>256	>256	2	>256	1	–
<i>Prevotella loescheii</i>	16	128	>256	4	8	0,25	–
<i>Bacteroides fragilis</i>	16	32	>256	4	16	0,125	–
<i>Bacteroides fragilis</i>	16	256	0,064	0,5	2	0,25	–
<i>Bacteroides fragilis</i>	32	>256	2	1	2	0,25	–
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>	64	>256	4	1	32	0,25	–
<i>Bacteroides capillosus</i>	16	>256	>256	0,5	2	0,25	–

TGC: tigecyclin; CM: clindamycin; MZ: metronidazol; PTC: piperacillin/tazobactam; MP: meropenem; PGL: penicillin G

klinikai gyakorlatba. Az irodalmi adatok, nemzetközi vizsgálatok azt mutatják, hogy *in vitro* és *in vivo* kiváló hatása van a multirezisztens Gram-pozitív baktériumokra (methicillinrezisztens *S. aureus*, penicillinrezisztens *Streptococcus pneumoniae*, vancomycinrezisztens enterococcusok), az intraabdominalis infekciókban főszerepet játszó Gram-negatív bélbaktériumokra (ESBL-termelő Enterobacteriaceae törzsekre). Számos vizsgálatban igazolták, hogy a tigecyclin nagyon hatékony a nem fermentatív Gram-negatív pálcák közül az *Acinetobacter* speciesekre és a *Stenotrophomonas* törzsekre, valamint az atípusos kórokozókra is (22). Nem hat azonban a proteusokra és a *Pseudomonas aeruginosa* törzsekre. A klinikai vizsgálatok igen jó eredmények-

kel zárultak a komplikált bőr- és lágyrész-fertőzések, valamint intraabdominalis infekciók kezelésében. Elsősorban azokban a fertőzésekben ajánlható a tigecyclinnel végzett empirikus monoterápia, amelyekben polimikrobás etiológia (így a kevert, aerob-anaerob baktériumok okozta infekciók) és/vagy multirezisztens kórokozók feltételezhetők.

A számos, aerob baktériumokkal, ezen belül is „problémabaktériumokkal” végzett tanulmány mellett csak néhány olyan vizsgálat látott napvilágot, amelyben a tigecyclin anaerobellenes aktivitásával foglalkoztak. Glupczynski és munkatársai (23) 2005 és 2007 között két belgiumi kórház anyagából gyűjtött 333 anaerob klinikai izolátum antibiotikum-érzékenységét határoz-

Az adekvát empirikus terápia alapfeltétele, hogy a klinikusok figyelembe vegyék a helyi rezisztencia-viszonyokat.

ták meg kilenc antibiotikummal szemben Etesttel. A törzsek 61%-a béta-laktamáz-termelő volt. Az amoxicillin/klavulánsav, piperacillin/tazobactam, metronidazol és a meropenem a legtöbb anaerob törzsszel szemben igen jó hatékonyságot mutatott, de a *Bacteroides fragilis*-csoportba tartozó törzsek mintegy 10%-a rezisztens volt a két, béta-laktámot és béta-laktamáz inhibitorot tartalmazó antibiotikumra. Nem találtak metronidazolrezisztens törzset, azonban a *Bacteroides* spp. törzsek 3%-a csökkent érzékenységet mutatott meropenemre (MIC ≥ 4 $\mu\text{g/ml}$). A cefoxitin, clindamycin és a moxifloxacin voltak a legkevésbé aktívak, a törzsek 33%, 52% és 57%-ban rezisztensek voltak a *Bacteroides fragilis*-csoporton belül. A tigecyclin igen jó hatékonyságot mutatott az összes vizsgált törzsszel szemben: a MIC₅₀ 0,25 $\mu\text{g/ml}$, illetve a MIC₉₀ 2 $\mu\text{g/ml}$ volt, és mindössze a törzsek 7%-a bizonyult rezisztensnek a vizsgálat során alkalmazott rezisztencia-határérték (≥ 8 $\mu\text{g/ml}$) szerint. A 141, *Bacteroides fragilis*-csoportba tartozó törzs 87%-a és a 19, *Clostridium* genusba tartozó törzs 85%-a volt tigecyclinérzékeny. Ez, feltehetően a nem azonos rezisztencia-határérték alkalmazása miatt, jóval magasabb érték, mint a most kapott rezisztenciaszázalék.

Hasonló eredményekről számolt be korábban Wybo és munkacsoportja (24), akik 443 anaerob klinikai izolátumot gyűjtöttek 2003–2005 között kilenc belga kórházból. A MIC-értékeket kilenc, már ismert antianaerob szerrel és három újonnan bevezetett antibiotikummal (moxifloxacin, linezolid és tigecyclin) szemben határozták meg. A legtöbb vizsgált Gram-negatív anaerob pálcá a *Fusobacterium* spp. kivételével rezisztens volt penicillinre, a piperacillin/tazobactam, metronidazol, chloramphenicol, meropenem jó anaerobellenes aktivitást mutatott, az amoxicillin-klavulánsav csak az általuk vizsgált *Bacteroides fragilis* törzsek 86%-ára volt hatásos. A cefoxitin, cefotetan és a clindamycin csak 62%, 52% és 48%-ban volt aktív a *Bacteroides fragilis* törzsekre *in vitro*. A tigecyclin MIC₅₀- és MIC₉₀-értéke 0,5–8 $\mu\text{g/l}$ volt.

Katsandri és munkatársai (25) a tigecyclin *in vitro* aktivitását vizsgálták benzilpenicillinnel, piperacillin-tazobactammal, cefoxitinnel, imipenemmel, metronidazzal, clindamycinnel és tetraciklinnel együtt 249 Gram-negatív anaerob baktériumtenyészetben (158 *Bacteroides fragilis*-csoport, 27 nem fragilis *Bacteroides* spp., 44 *Prevotella* spp. és 20 egyéb Gram-negatív izolátum), amelyeket nyolc athéni kórházból gyűjtöttek. Az összes törzs tigecyclin MIC₅₀- és MIC₉₀-értéke 0,25 és 2 $\mu\text{g/ml}$, míg a *Bacteroides fragilis* csoportból származó törzsek MIC₅₀- és MIC₉₀-értéke valamivel magasabb, 0,5 és 4 $\mu\text{g/ml}$ volt. A törzsek 93%-a érzékeny volt tigecyclinre (az általuk alkalmazott érzékenységi határérték: MIC ≤ 4 $\mu\text{g/ml}$) és nem találtak magas szintű rezisztenciát (MIC ≥ 32 $\mu\text{g/ml}$). Vizsgálá-

tukban azt tapasztalták, hogy a tigecyclin *in vitro* hatékonysága igen kiváló a metronidazol- és tetraciklinrezisztens izolátumokkal szemben is (MIC₉₀: 0,5 és 8 $\mu\text{g/ml}$).

Goldstein és munkacsoportja (5) 396, ritkán előforduló anaerob speciesbe tartozó törzset vizsgálva egyetlen *Prevotella oralis* talált tigecyclinrezisztensnek. Sotto és munkatársai (26) hasonló módon speciális kórképből, diabeteses láb fekélyéből izolált törzsek vizsgálata során azt találták, hogy minden izolált anaerob baktérium érzékeny volt tigecyclinre. Az egyetlen hazai többcentrumos vizsgálat 2006-ban történt a tigecyclin *in vitro* hatékonyságával kapcsolatban (27), amelynek során elsősorban Gram-pozitív és Gram-negatív aerob baktériumok összehasonlító érzékenységi vizsgálatára került sor. Ennek részeként a tigecyclin terápiás indikációját képező kórképből származó, 81 különböző anaerob baktériumtörzset vontak be a vizsgálatba. A vizsgált anaerob baktériumok közel egyharmada a leggyakrabban előforduló *Bacteroides fragilis*-csoportba tartozott. A többi izolátum 12 különféle Gram-pozitív és Gram-negatív speciést képviselt. Tigecyclinre egy *Bilophila wadsworthia* törzs kivételével valamennyi izolátum érzékenynek bizonyult.

Vizsgálatunkban a hazai anaerob törzsek szélesebb körében értékeltük a tigecyclin *in vitro* hatékonyságát. A vizsgált peptostreptococcusok 100%-ban érzékenyek voltak a tigecyclin iránt, kiváló érzékenységet mutattak a *Clostridium* törzsek is (98%). A *Prevotella* törzsek 96,4%-a, míg a *Bacteroides* törzsek 95,4%-a bizonyult érzékenynek. A *Bacteroides* és *Clostridium* törzsekben a belga eredményekhez képest nagyobb érzékenységi százalékok (23, 24) annak tulajdoníthatók, hogy a hazai vizsgálatban a CLSI (21) már elfogadott rezisztencia-határértéke alapján (≥ 16 $\mu\text{g/ml}$), míg a belga vizsgálatokban alacsonyabb rezisztencia-határérték (≥ 8 $\mu\text{g/ml}$) alapján történt az értékelés. Összességében az anaerob baktériumok vonatkozásában a hazai és külföldi többcentrumos vizsgálatok adatai között nincs jelentős különbség a tigecyclin hatékonyságára vonatkozóan, a magyar tigecyclin-MIC-adatok igen közel állnak a hasonló nemzetközi felmérések MIC-adataihoz. A tigecyclin kiváló *in vitro* hatékonysággal rendelkezik az adott időszakokban általunk vizsgált Gram-negatív és Gram-pozitív anaerob baktériumokkal szemben.

A vizsgálat korlátjaként említhető, hogy mindössze három mikrobiológiai laboratórium és az általuk kiszolgált klinikai beteganyag vett részt a felmérésben, és így elsősorban kórházi ápolást igénylő betegekből izolált anaerob törzsek rezisztenciavizsgálatára került sor. Nem történt meg az ugyanazon infekcióból származó aerob baktériumok vizsgálata. Az előzőekben közölt hazai felmérés során került sor aerob baktériumok rezisztenciavizsgálatára a tigecyclint és komparátor antibiotikumokat is összehasonlítva (27). Elsősorban azokban a fertőzésekben ajánlható a tigecyclinnel végzett empirikus monoterápia, amelyekben polimikrobás etiológia és/vagy multirezisztens kórokozók feltételezhetők, így igen jó alternatíva lehet a klinikusok szá-

mára olyan infekciókban, ahol mint a kevert flóra tagjai ezek az anaerob mikroorganizmusok patogén szerepet játszanak. Az adekvát empirikus terápia alapfeltétele azonban az, hogy az antibiotikum-választáskor a klinikusok figyelembe vegyék a helyi rezisztenciaviszonyokat a felmérések adatait ismerve.

Az irodalomban közölt számos többcentrumos vizsgálat, nemzetközi felmérés alapján a tigecyclinnek *in vitro* és *in vivo* kiváló hatása van a multirezisztens Gram-pozitív baktériumokra (methicillinrezisztens *Staphylococcus aureus*, penicillinrezisztens *Streptococcus pneumoniae*, vancomycinrezisztens enterococcusok), az *Enterobacteriaceae* család legtöbb tagjára (köztük a kiterjedt spektrumú béta-laktamáz enzim termelőkre is), továbbá a legtöbb klinikailag releváns Gram-pozitív

és Gram-negatív anaerob baktériumra és az atípusos patogénekre. Ezeket a megfigyeléseket alátámasztják az aerob baktériumokra vonatkozóan előzőekben közölt hazai *in vitro* rezisztenciaadatok (27) és az anaerob baktériumokra vonatkozó vizsgálati eredményeink is. A klinikai vizsgálatok jó eredményekkel zárultak komplikált bőr- és lágyrész-fertőzések, valamint intra-abdominalis infekciók kezelésében (1–4). Így elsősorban azokban a fertőzésekben ajánlható a tigecyclinnel végzett empirikus monoterápia, amelyekben polimikrobás (aerob-anaerob) etiológia és/vagy multirezisztens kórokozók feltételezhetők.

Köszönetnyilvánítás

A vizsgálatot a Wyeth Kft. támogatásával végeztük.

IRODALOM

1. Olivia ME, Rekha A, Yellin A, et al. A multicentre trial of the efficacy and safety of tigecycline versus imipenem/cilastatin in patients with complicated intra-abdominal infections BMC. *Infect Dis* 2005;5:88.
2. Fomin P, Beuran M, Gradauskas A, et al. Tigecycline is efficacious in the treatment of complicated intra-abdominal infections. *Int J Surg* 2005;3:35-47.
3. Sacchidanad S, Penn RL, Embil JM, et al. Efficacy and safety of tigecycline monotherapy compared with vancomycin plus aztreonam in patients with complicated skin and skin structure infections: results from a Phase 3, randomized, double-blind trial. *Int Infect Dis* 2005;9:251-61.
4. Breedts J, Teras J, Gardovskis J, et al. Safety and efficacy of tigecycline in treatment of skin and skin structure infections: results of a double-blind phase 3 comparison study with vancomycin-aztreonam. *Antimicrob Agents Chemother* 2005;49(11):4658-66.
5. Goldstein EJC, Citron DM, Merriam CV, et al. Comparative *in vitro* susceptibilities of 396 Unusual anaerobic strains to tigecycline and eight other antimicrobial agents. *Antimicrob Agents Chemother* 2006;50:3507-13.
6. Jacobus NV, McDermott LA, Ruthazer R, et al. *In vitro* activity of tigecycline against the *Bacteroides fragilis* group. *Antimicrob Agents Chemother* 2004;48:1034-6.
7. Pertersen PJ, Jacobus NV, Weiss WJ, et al. *In vitro* and *in vivo* antibacterial activities of a novel glycylcycline, the 9-t butylglycylamido derivative of minocycline (GAR)-36. *Antimicrob Agents Chemother* 1999;44:738-44.
8. Fluit AC, Florijn A, Verhoes J, et al. Presence of tetracycline resistance determinants and susceptibility to tigecycline and minocycline. *Antimicrob Agents Chemother* 2005;49:1636-8.
9. Chopra I. Genetic and biochemical basis of tetracycline resistance. *J Antimicrob Chemother* 1986;18(SupplC):51-6.
10. Bauer G, Berens C, Projan SJ, et al. Comparison of tetracycline and tigecycline binding to ribosomes mapped by dimethylsulphate and drug-directed Fe²⁺ cleavage of 16S rRNA. *J Antimicrob Chemother* 2004;53:592-9.
11. Yang W, Moore IF, Koteva KP, et al. TetX is a flavin-dependent monooxygenase conferring resistance to tetracycline antibiotics. *J Biol Chem* 2004;279:52346-52.
12. Snyderman DR, Jacobus NV, McDermott LA, et al. National survey on the susceptibility of *Bacteroides fragilis* group: report and analysis of trends for 1997-2000. *Clin Infect Dis* 2002;35:5126-34.
13. Hecht DW. Prevalence of antibiotic resistance in anaerobic bacteria: worrisome development. *CID* 2004;39:92-7.
14. Hecht DW. Anaerobes: antibiotic resistance, clinical significance, and the role of susceptibility testing. *Anaerobe* 2006;12:115-21.
15. Hedberg M, Nord CE. Antibiotic susceptibilities of *Bacteroides fragilis* group isolates in Europe. *Clin Microbiol Infect* 2003;9:475-88.
16. Söki J, Edwards R, Hedberg M, et al. Examination of *cfiA*-mediated carbapenem resistance in *Bacteroides fragilis* from a European antibiotic susceptibility survey. *Int J Antimicrob Agents* 2006;28:497-502.
17. Brazier JS, Subbs SI, Duerden BI. Metronidazole resistance among clinical isolates belonging to the *Bacteroides fragilis* group: time to be concerned? *J Antimicrob Chemother* 1999;44:580-1.
18. Söki J, Gal M, Brazier JS, Rotimi, et al. Molecular investigation of genetic elements contributing to metronidazole resistance in *Bacteroides* strains. *J Antimicrob Chemother* 2006;57:212-20.
19. Oh H, El Amin N, Davies T, et al. GyrA mutation associated with quinolone resistance in *Bacteroides fragilis* group strains. *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45:1977-81.
20. http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/
21. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Sixteenth Informational Supplement. CLSI document. M100-S16. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA., USA, 2006.
22. Pankey GA. Tigecycline. *J Antimicrob Chemother* 2005;56:470-80.
23. Glupczynski Y, Berhin C, Nizet H. Antimicrobial susceptibility of anaerobic bacteria in Belgium as determined by E-test methodology. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2009;28:261-7.
24. Wybo I, Piérard D, Verschraegen I, et al. Third Belgian multicentre survey of antibiotic susceptibility of anaerobic bacteria. *J Antimicrob Chemother* 2007;59:132-9.
25. Katsandri A, Avlami A, Pantazatou A, et al. *In vitro* activities of tigecycline against recently isolated Gram-negative anaerobic bacteria in Greece, including metronidazole-resistant strains. Hellenic Study Group for Gram-negative anaerobic bacteria. *Diag Microbiol Infect Dis* 2006;55:231-6.
26. Sotto A, Bouziges N, Jourdan N, et al. *In vitro* activity of tigecycline against strains isolated from diabetic foot ulcers. *Pathol Biol (Paris)* 2007;55(8-9):398-406.
27. Konkoly Thege M, Nikolova R. A tigecyclin, egy új glycylcyclin antibiotikum *in vitro* hatékonyságának vizsgálata Magyarországon. Multicentrikus tanulmány. *Infektológia és Klinikai Mikrobiológia* 2006;14 (3/4):83-91.